



Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Química e Bioquímica



**Síntese de novos complexos
bioorganometálicos de ruténio e avaliação
das suas propriedades anti-tumorais**

Tânia Sofia Ferreira Moraes

Doutoramento em Química
Especialidade em Química Inorgânica

VERSÃO PÚBLICA

2013

Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Química e Bioquímica



**Síntese de novos complexos
bioorganometálicos de ruténio e avaliação das
suas propriedades anti-tumorais**

Tânia Sofia Ferreira Morais

Tese orientada pela Professora Doutora Maria Helena Viegas
Garcia, especialmente elaborada para a obtenção do grau de
doutor em Química (Especialidade Química Inorgânica)

2013

O trabalho experimental apresentado nesta tese foi realizado no grupo de Química Organometálica e Bioorganometálica do Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, sob a orientação da professora Maria Helena Garcia.

Neste trabalho foram utilizadas as siglas originais, em inglês, de acordo com o livro da IUPAC da Química Inorgânica, e de modo a facilitar a consulta deste trabalho.

Este trabalho recebeu o apoio financeiro da Fundação para a Ciência e Tecnologia (SFRH/BD/45871/2008) e encontra-se protegido por duas patentes (PCT/IB2012/054914 e PCT/IB2013/052035).

Agradecimentos

Ao longo destes anos, muitos foram aqueles que contribuíram, de uma forma directa ou indirecta, para a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar quero expressar toda a minha gratidão à professora Maria Helena Garcia, pela sua orientação. Agradeço a confiança, disponibilidade, paciência, os conselhos, as boas conversas, o incentivo e o entusiasmo com que acolhe todas as minhas ideias...obrigada por me deixar “bater com a cabeça” tantas vezes...

À professora Paula Robalo, pela sua disponibilidade, apoio, paciência para responder às minhas inúmeras questões sobre voltametria, e pelas boas discussões que me deixam com “nós na cabeça”...

À professora Maria José Brito pela disponibilidade e simpatia com que me recebe sempre que surgiram problemas de NMR.

À professora Fátima Piedade pela resolução das estruturas de raios-X. As minhas desculpas pela minha “carabina”...

À Fernanda Marques, Lurdes Gano, Fátima Gartner, Nuno Mendes e Francisco Tortosa por adoptarem e tratarem com tanto carinho e dedicação dos meus TM's.

Aos meus colegas e amigos FCULianos e ex-FCULianos: Susana Lucas, Catarina Portugal, Paulo Madeira, Nuno Xavier e Paulo Costa pelo companheirismo e amizade durante estes anos. Aos companheiros de todos os dias: Filipa Santos, Sofia Alves, Ana Patrícia e Tiago Jorge pela amizade e muitas risadas que tornam tudo mais fácil!

A todos os colegas que foram passando pelo 46, em especial: Andreia, Ana Isabel, Cristina, Filipa, Leonor e Tiago pela amizade, sugestões e companheirismo.

Aos meus amigos da bela Ericeira: Cátia Rojão, Joana Melo, Filipa Nunes, Rui Correia e Paulo Santos pela presença constante (mesmo que por vezes ao longe), ajuda nos momentos mais difíceis e pelos grandes momentos que partilhamos. Um agradecimento especial à Nazaré (Naza), Elsa Casado, Cátia Acúrcio, Sónia Silva e Nelson Santos pela amizade e por estarem sempre a puxar por mim (e pelas “unhas no ouriço” que mantêm a nossa sanidade mental) ☺

Por último agradeço aos meus pais que sempre me apoiaram incondicionalmente e encorajaram a lutar pelos meus objectivos...sem vocês nada disto era possível.

A todos o meu muito obrigada!!

O cancro é a segunda causa de morte no mundo inteiro sendo por isso alvo de uma intensiva pesquisa. Até à data, cerca de 50 – 70% dos tumores são tratados à base de platina (cisplatina, oxaliplatina e carboplatina). Devido aos vários e fortes efeitos secundários causados por estes fármacos, e à resistência intrínseca ou adquirida, a investigação neste campo estendeu-se a outros iões metálicos. O ruténio apresenta-se como um forte candidato para o desenvolvimento de novos fármacos por apresentar baixa toxicidade, selectividade para os tumores, inibição da progressão das metástases e propriedades anti-angiogénicas

É neste contexto que surge este trabalho, cujo principal objectivo era a síntese de novos complexos organometálicos de Ru(II), e a avaliação da sua potencialidade enquanto agentes antitumorais.

Nesta tese de doutoramento, foram sintetizados 26 novos complexos organometálicos contendo o fragmento $\{\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\}$ com ligandos heteroaromáticos. Todos os complexos foram caracterizados por espectroscopias de NMR (1D e 2D), FT-IR, e UV-vis., espectrometria de massa, análises elementares e voltametria cíclica. Para uma mais completa caracterização foram também obtidas as estruturas por difracção de raios-X sempre que foi possível obter monocristais adequados para esta técnica. A estabilidade em solução aquosa e os valores de log P foram determinados.

A actividade citotóxica dos complexos foi avaliada nas linhas cancerígenas humanas A2780 (carcinoma do ovário), A2780CisR (carcinoma do ovário, resistente à cisplatina), MCF7 (carcinoma da mama, dependente de estrogénio), MDAMB231 (carcinoma da mama, independente de estrogénio),

PC3 (carcinoma da próstata) e HT29 (carcinoma do cólon), por ensaios colorimétricos de MTT e expressa como valores de IC₅₀.

Para delinear a farmacocinética destes compostos, foi avaliada a capacidade de interacção de alguns complexos com proteínas séricas (albumina e transferrina humanas), bem como o efeito desta ligação na actividade citotóxica dos compostos.

Estudaram-se, ainda, os mecanismos de captação celular dos compostos de Ru(II), usando moduladores do transporte celular, e foi possível identificar alguns alvos intracelulares.

Alguns destes compostos começaram a ser estudados em modelos animais, estando alguns dos estudos ainda em curso.

O trabalho apresentado nesta tese encontra-se publicado em 12 artigos em revistas internacionais com arbitragem científica, e registado em 2 patentes internacionais.

Palavras -Chave

Complexos de ruténio(II)-Ciclopentadienilo

Ligandos heteroaromáticos

Interacção com proteínas

Citotóxicidade

Captação celular

Cancer is the second leading cause of death worldwide, and is therefore the subject of an intensive research. So far, about 50-70% of all tumors are treated with platinum based compounds (cisplatin, carboplatin and oxaliplatin). Due to several and severe side effects caused by platinum drugs and the resistance (intrinsic ou acquired), complexes with metal ions other than platinum, have been investigated for their anticancer properties. Ruthenium appears as a strong candidate for drug development showing low toxicity, selectivity for tumors, inhibition of metastasis progression and anti-angiogenic properties.

In this frame, this work had, as main goal, the synthesis of new Ru(II) organometallic complexes and their evaluation as potential anticancer agents.

Within this Ph.D thesis, 26 new organometallic complexes were synthesized derived of $\{\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\}$ fragment with heteroaromatic ligands. All the compounds were fully characterized by NMR (1D and 2D). FTIR and UV-vis. spectroscopies, mass spectrometry, elemental analysis, cyclic voltammetry and by X-ray diffraction, whenever single crystals were obtained. The stability in aqueous solutions and Log P values were determined.

The cytotoxic activity of the complexes towards the human cancer cell lines A2780 (ovarian carcinoma), A2780CisR (ovarian carcinoma, Cisplatin resistant), MCF7 (breast adenocarcinoma, hormone dependent), MDAMB231 (breast adenocarcinoma, hormone independent), PC3 (prostate carcinoma) and HT29 (colon adenocarcinoma) was investigated by using the MTT assays, expressed as IC_{50} values.

In a first approach to outline the pharmacokinetics of these compounds, the interaction of the complexes with serum proteins (human albumin and human transferrin) were evaluated, as well as the effect of the binding in cytotoxic activity of these compounds.

The mechanisms of cellular uptake of the present Ru(II) compounds were also studied, using modulators of cellular transport. It was possible identify some intracellular targets.

For some of these compounds the studies with animal models are current in progress.

The work here present is published in the form of 12 papers in international journals with peer review and is the subject of 2 international patents.

Keywords

Ruthenium(II)-cyclopentadienyl complexes

Heteroaromatic ligands

Proteins interaction

Cytotoxicity

Cellular uptake